

WS/T 224—2002

## 前 言

真空采血系统作为全封闭血样采集系统,能够极大提高血样质量,促进分析前实验室质量控制,同时比传统注射器采血更好地保护采血师、检验师等医务人员的安全,避免血源性交叉感染。如今,在世界范围内,真空采血系统是血样采集系统的主流。我国近年来已进行真空采血系统的引进和开发,但是至今没有行业标准,产品规格混乱,质量优劣不等。为了规范真空采血系统生产,提高真空采血系统质量,使之更好地服务于医疗,特制定本标准。

对真空采血管及其添加剂的质量进行检定时,需引用相应的标准。本标准是在参照美国国家临床实验室标准化委员会(NCCLS)颁发的《真空采血管及其添加剂》第四版修正标准的基础上制定的。

该标准规定了真空采血管生产原料、结构及标记等技术要求,并提供检测评估真空采血管和管盖质量方案以及肝素、EDTA、枸橼酸钠等抗凝剂的特殊要求,是美国真空采血管及其添加剂生产厂家和使用者广泛采用的标准。由于国内尚无同类标准,故制定本标准时等效采用 NCCLS H1-A4 标准。

本标准从 2002 年 7 月 1 日起实施。

本标准的附录 A、附录 B、附录 C、附录 D 都是标准的附录。

本标准由卫生部医政司提出。

本标准由卫生部临床检验中心、BD 公司负责起草。

本标准主要起草人:张克坚、张勤、王松青。

本标准由卫生部委托卫生部临床检验中心负责解释。

WS/T 224—2002

## NCCLS H1-A4 前言

NCCLS H1-A4 包含所有关于真空采血管及其添加剂的最新信息。这项标准是为真空采血管、添加剂及其附属装置生产厂家、临床实验室工作人员以及所有需要了解、鉴定或使用本采血系统的人员而制定。

标准阐述了真空采血管生产原料、结构及标记等要求,并提供检测评估真空采血管和管盖质量的方案以及对采血管添加剂肝素、乙二胺四乙酸(EDTA)、枸橼酸钠的特殊要求。

经过反复修改的 NCCLS 标准反映了科学技术的不断进步并综合反映了该标准使用者的意见和建议。NCCLS H1-A4 版本包括 H1-A3、H24-T、H35-T 版本使用者的建议,以使该项标准更趋完善。

## 中华人民共和国卫生行业标准

## 真空采血管及其添加剂

WS/T 224—2002

Evacuated tubes and additives for blood  
specimen collection

## 1 范围

本标准规定了无菌真空采血管及其添加剂的相关技术要求,其中包括真空采血系统相关定义,采血防护措施,采血管及管盖材料、尺寸、设计及制造要求,影响因素控制,采血准确度,添加剂含量,溶液强度,采血针要求,标签要求及采血管质量评估方法。本标准同时描述采血管常用添加剂的作用形式、特性和检验方法。

本标准适用于真空采血系统生产厂家、医疗机构、以及所有需要了解、使用本采血系统的人员对真空采血管及其添加剂进行质量评估,从而规范真空采血系统生产,提高真空采血系统质量,使之更好地服务于医疗。

## 2 引用标准

下列标准所包含的条文,通过在本标准中引用而构成为本标准的条文。本标准出版时,所示版本均为有效。所有标准都会被修订,使用本标准的各方应探讨使用下列标准最新版本的可能性。

GB/T 14233.1—1998 医用输液、输血、注射器具检验方法 第1部分:化学分析方法

GB/T 14233.2—1993 医用输液、输血、注射器具检验方法 第2部分:生物试验方法

## 3 定义

本标准采用下列定义。

## 3.1 添加剂 additive

除了管壁和管盖的涂料外,在生产过程中加入采血管中的有效化学成分。

## 3.2 抗血糖分解剂 antiglycolytic agent

抑制血细胞分解血糖的化学试剂。

## 3.3 触变分离胶 thixotropic separator gel

离心时粘度可发生暂时改变的惰性物质。其密度介于血细胞/凝血块和血浆/血清之间。

## 3.4 采血管容器 container

包括管盖在内的盛血液标本的玻璃或塑料容器。

## 3.5 采血管内壁 container interior

管子和管盖与血液标本接触的内壁。

## 3.6 无菌采血管(限内壁) containers claimed to be sterile (interior only)

如果生产厂家声明其采血管无菌,则必须在制造采血管时符合 GB/T 14233.2 关于无菌容器的要求。在标明的有效使用时间内,采血管必须保持无菌。

## 3.7 采血量 draw

从静脉穿刺处负压吸至真空采血管中的血量。

中华人民共和国卫生部 2002-04-20 批准

2002-07-01 实施

## WS/T 224—2002

## 3.8 采血管的设计用途 intended use of the container

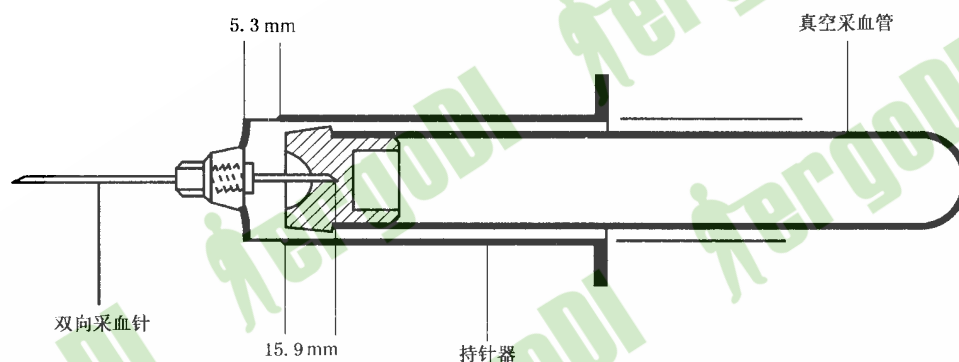
生产厂家在产品标签上标明的采血管用途。

## 3.9 管子标定尺寸 nominal tube size

以毫米(mm)为单位描述的采血管近似外径和长度。

## 3.10 标准单管和双管双向采血针/持针器 standard single-and mutiple-draw, double-ended blood-collection needles/holder

在针的性能和持针器尺寸上与本标准所规定的真空采血管相匹配的双向采血针系统(见图1, 图2)。多管采血双向针在采血管一端具有活动性针套,当需采集多管血样而更换采血管时可以起到活瓣作用,防止血液漏出。



注1:双向采血针需固定于配套持针器上。

注2:采血管盖几何设计需符合穿刺要求。

图1 标准双向采血针及持针器的穿刺前准备状态

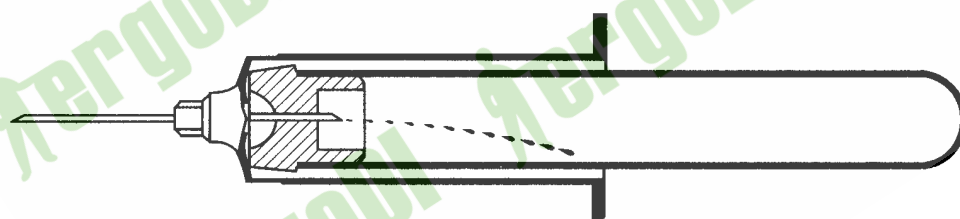


图2 标准双向采血针及持针器的标本采集状态

## 3.11 管盖 tubeclosure

真空采血管上端能被针头穿透的胶塞。若试验项目要求手工开启管盖,管盖设计须为双层安全头盖,避免胶塞内外表面附着血样污染双手。为获取管内血样,管盖可轻易开启并允许被自动检测仪取样针顺利穿透,同时可有效防止血样外溅。

## 3.12 管壁涂料 tube coating

涂于采血管内壁的化学物质。

## 4 通用防护措施

采取血液标本时应严格遵守通用防护措施并遵循正确采血方法。任何血样都有被血源性病原体感染的可能。应尽量采用专为减少针刺损伤而设计的安全产品(如安全持针器、双向采血针及利器收容处理桶)。

## 5 材料

### 5.1 采血管

制造真空采血管的材料应使对管子内容物的观察清晰而不失真,具有耐受常规使用的物理强度,并且能够在有效期内保持管内真空。采血管的材料有玻璃和塑料两种。

### 5.2 制造

制造采血管的所有材料、润滑剂、涂料或添加剂都不得对正确使用采血管得到的试验结果产生影响。

### 5.3 管盖材料

管盖材料必须采用能被针头刺穿,并能重新闭合的材料。在产品的有效期内能够保持采血管内真空。管盖易于开启。

### 5.4 化学添加剂

如果在 GB/T 14233.1 分析试剂等级中有所规定,所用化学添加剂必须符合这些规定或者在标签上注明与这些规定的区别。

### 5.5 纯化离子交换水

采血管中所含任何溶液的配制应该按 GB/T 14233.1 的规定执行或用等效的纯化水配制。

## 6 尺寸

### 6.1 采血管体积

采血管外部体积和管盖的设计应该与标准双向采血针和持针器相匹配。采血管的标注尺寸应该包括管子外径、长度以及管子可采集的标本量。为了混匀血样,含添加剂管子的顶端应预留足够的空间。

### 6.2 与离心杯的兼容性

含血样的采血管应与临床常用离心机的离心杯相匹配。正确地安放、离心以及从离心机内取出都不应造成采血管破裂。

## 7 设计

### 7.1 完整采血管的设计

采血完毕后的采血管应该适用于包括旋转型在内的机械混匀器。当使用机械混匀器混匀血样时,管盖不应松动。

### 7.2 管盖的设计

管盖的设计应满足以下要求:

- a) 用机械开盖器或戴手套的手指可以轻易开启。如果需要,还可轻易还原。
- b) 开启管盖时,不必触摸任何可能与管子内容物接触的管内壁或管盖表面。
- c) 使用采血针和持针器采集血样时,管盖不会脱落或松动。

## 8 制造

### 8.1 强度

含血样的采血管必须能够耐受 2 200 g 所产生的相对离心力的离心强度。

### 8.2 外壁质地

采血管外壁不得有可致使用者皮肤损伤的任何利边、突起或粗糙表面。

## 9 影响因素的控制

### 9.1 标签上的警告



## WS/T 224—2002

用于制造采血管的任何材料或添加剂若对检验过程造成明显干扰或导致结果偏差时,必须在标签上予以说明,使这一信息能对使用者形成明确的警告。

## 9.2 内部清洁

采血管内部应无任何可见异物。

## 10 其他要求

除非在本标准的其他地方另有说明,均应服从下述要求:

### 10.1 采血量和充盈量的精确度

真空管在出厂前应检测其采血量和充盈量的精确度,采血量应在标示采血量 $\pm 10\%$ 范围内。有效期结束前,采血量不应低于出厂时标定最小值的 $90\%$ 。

### 10.2 添加剂含量许可范围

固体添加剂含量应在标示值 $+33\%$ 至 $-10\%$ 的范围内,液体添加剂含量应在标示值的 $+10\%$ 和 $-15\%$ 的范围内。

### 10.3 溶液强度

在有效期内,溶液的强度或活性应在标示值的 $\pm 5\%$ 范围内。

### 10.4 标准双向采血针和持针器

采血管应与标准双向采血针和持针器配套使用,从而为血样采集、运输和保存提供安全可靠的封闭系统。

## 11 标记和标签

### 11.1 说明

在产品的每一件运输包装中均应附带如何使用真空采血系统采集血样的详尽说明。其中应包括有关采血管使用和血样分析的注意事项。

### 11.2 辨别

对每个采血管的用途都能通过包装标记加以辨认。此外,在管子的外壁应预留一处空白用于添加病人姓名、编号等信息。

### 11.3 “无菌”采血管

所有无菌真空采血管都应有清晰的标示“无菌”。

## 12 真空采血管的评估

生产厂家和用户均可采用真空采血管的评估方法。生产厂家在向用户发货前必须对真空采血管进行抽样评估以确保产品质量。用户不必在临床使用前对真空采血管进行质量评估;若在使用中出现问題,可用此法进行评估。

### 12.1 真空采血管真空度评估

#### 12.1.1 目的

通过对真空采血管真空度的评估,可以确定其真空度,并且能判定在标准实验条件下该产品是否符合标定采血量的要求。

标定采血量是指真空采血管在 $101\text{ kPa}$ ( $760\text{ mmHg}$ )大气压及 $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 室温标准条件下的采血量,若在非标准条件下进行评估,则应对结果作出相应修正。

#### 12.1.2 用品

评估真空采血管真空度的用品:

##### 12.1.2.1 $50\text{ mL}$ 微孔标准滴定管。

##### 12.1.2.2 $20\text{ G}$ (内径 $38\text{ mm}$ )标准双向采血针。

## WS/T 224—2002

12.1.2.3 1 m 聚乙烯或乳胶软管(在两端分别连接滴定管与采血针)。

12.1.2.4 去离子水。

### 12.1.3 取样

采用一次抽样方案取样。

### 12.1.4 步骤

在 12.1.1 中规定的标准条件下评估真空采血管真空度,其步骤如下:

- a) 将滴定管灌满去离子水;
- b) 让水由连接管和针头流出以驱除管内空气;
- c) 重新灌满滴定管,使凹液面指向“0”刻度;
- d) 将针头插入真空采血管的管盖;
- e) 打开滴定管阀门,推动针头并捅破管盖,使真空管吸液完全;
- f) 将真空管提高,使其凹液面与滴定管的凹液面等高,读取所吸液体体积,精确至 0.1 mm;
- g) 关闭滴定管阀门,记录所吸液体体积;
- h) 重新灌满滴定管并调零,供检测其他待测采血管用。

### 12.1.5 合格

所吸液体体积超过标定采血量 $\pm 10\%$ 的采血管不合格。

## 12.2 组装后管盖的评估

### 12.2.1 目的

评估组装后管盖,以确定在采样和混匀过程中管盖是否严密。

### 12.2.2 用品

评估组装后管盖的仪器和用品:

12.2.2.1 20 G 标准双向采血针和持针器。

12.2.2.2 机械混匀器(旋转型或其他类型)。

### 12.2.3 步骤

检测组装后管盖的步骤如下:

- a) 采用 20 G 标准双向采血针和持针器,垂直位将真空采血管注满水。将采血管缓慢抽出,观察管盖是否从采血管脱出。清除残留在管盖表面的水。
- b) 不要塞紧管盖(如果其已有部分松动),直接将管子放到机械试管混匀器中,开机混匀 20 min。
- c) 取出采血管,检查组装后管盖是否出现:
  - 1) 管盖松动;
  - 2) 在管盖周围或穿刺点重新闭合处有液体渗出。

### 12.2.4 合格

12.2.4.1 凡出现脱落或明显松动的管盖不合格。

12.2.4.2 凡出现如液体溢出或外壁潮湿等任何漏液现象,管盖不合格。

## 12.3 离心检验

### 12.3.1 目的

利用离心检验以确定采样后真空采血管经过离心分离血样成分的适用性。

### 12.3.2 用品

进行离心检验需要使用的仪器和用品:

12.3.2.1 离心机:在采血管底部能产生大于 3 000 g 所产生的相对离心力。

12.3.2.2 标准双向采血针和持针器。

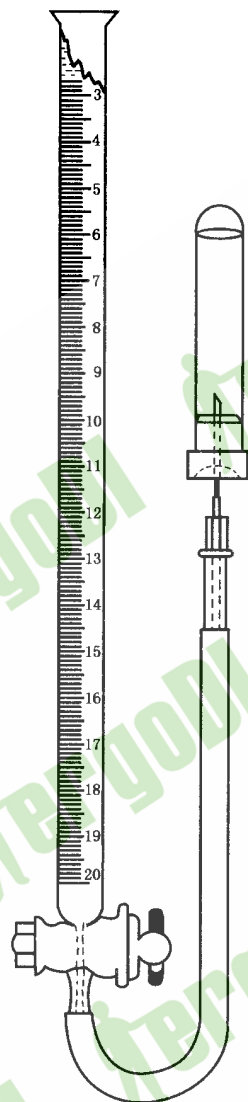


图 3 真空采血管真空度评估

### 12.3.3 步骤

检测真空采血管适用性的步骤如下：

a) 将真空采血管吸满水后，按照离心机生产厂家的操作说明将其置于离心杯。

b) 采用自由水平转头，以作用于真空管底部 2 200 g 产生的相对离心力下水平离心采血管 10 min。

计算离心力的公式如下式(1)所示：

$$RCF = 1.118 \times 10^{-5} \times n^2 \times r \dots\dots\dots(1)$$

式中：RCF——离心力；

$n$ ——离心机每分钟转数，r/min；

$r$ ——离心机半径(即由旋转中心至处于完全伸展状态的采血管底部的垂直距离)。

### 13 添加剂分析

有关添加剂分析按 GB/T 14233.1 的规定执行。



## WS/T 224—2002

## 附 录 A

(标准的附录)

## 采血管添加剂:乙二胺四乙酸

乙二胺四乙酸(EDTA)盐与血样中钙离子或其他二价离子发生螯合作用,阻断这些离子发挥凝血酶的辅因子作用,从而防止血液标本凝固。基于上述原因,EDTA 盐不适用于钙离子、铁离子、碱性磷酸酶、肌酸激酶和亮氨酸氨基肽酶的测定及聚合酶链反应(PCR)试验。除了用于血小板的分离和检验,EDTA 通常不适合凝血试验标本抗凝。由于可以保护血液的细胞成分,EDTA 盐适用于血液学试验。

## A1 作用原理

EDTA(相对分子质量 292)及其盐是一种氨基多羧基酸,可以有效地螯合血液标本中的钙离子。螯合钙或将钙从反应位点移去将阻滞和终止内源性或外源性凝血过程,从而防止血液标本凝固。

## A2 质量规定

## A2.1 EDTA 的鉴定

按如下方法鉴定 EDTA:

A2.1.1 用一试管盛 5 mL 蒸馏水或去离子水,加入两滴 8%(W/V, 8 g/100 mL)硫氰酸铵盐溶液和两滴 9%(W/V, 9 g/100 mL)氯化铁溶液,得到红色溶液。

A2.1.2 加入大约 50 mg 待测盐。如果待测盐中有 EDTA 存在,溶液会由红色变成黄色。

## A2.2 pH

EDTA 盐 pH 值范围如下:

1%(W/V)EDTA 二钠溶液:5.0±1.0。

1%(W/V)EDTA 二钾溶液:4.8±1.0。

1%(W/V)EDTA 三钾溶液:7.5±1.0。

EDTA(酸),饱和溶液:2.5±1.0。

## A2.3 钙的检测

下述方法用于 EDTA 化合物中钙的检测(EDTA 化合物中应该无钙):

A2.3.1 将要检测的 EDTA 盐配成 1:20(1 g EDTA 盐加入 2 L 水)水溶液,加入两滴 1%(W/V, 1 g/100 mL)甲基红酒精溶液指示剂,用 6 mol/L 的氨水中和。

A2.3.2 逐滴加入 3 mol/L 盐酸溶液,至溶液恰好呈酸性。

A2.3.3 加入 1 mL 3.5%(W/V, 3.5 g/100 mL)草酸铵,应无沉淀出现。

## A2.4 钾的检测

下述方法用于 EDTA 化合物中钾的检测:

A2.4.1 将 10 g 硝酸钴钠溶于 50 mL 水中,制成硝酸钴钠溶液。

A2.4.2 将要检测的 EDTA 盐配成 1:40(1 g EDTA 盐加入 4 L 水)水溶液,取 5 mL 硝酸钴钠溶液加入 2 mL EDTA 盐水溶液中。

如果是含钾化合物,会马上形成黄色沉淀。

含钾化合物焰色反应呈紫色,亦可辅助鉴别。

## A3 各种 EDTA 盐的物理特性和螯合能力

## A3.1 EDTA(自由酸)

这里描述自由酸形式的 EDTA 仅仅作为技术参考。(自由酸形式的 EDTA 不用于采血管,仅用于

## WS/T 224—2002

制造 EDTA 盐)

- a) 相对分子质量 292.2。
- b) 无嗅白色粉末。
- c) 溶解性:饱和溶液(20℃),200 mg/L~300 mg/L。
- d) 螯合能力:1 g 或 3.4 mmol EDTA 自由酸可螯合 3.4 mmol 或 136 mg 钙离子。

#### A3.2 EDTA Na<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O(EDTA 二钠)

- a) 相对分子质量 372.2。
- b) 无嗅白色粉末。
- c) 溶解性:20℃,200 g/L 左右。
- d) 螯合能力:1 g 或 2.6 mmol EDTA 二钠可螯合 2.6 mmol 或 105 mg 钙离子。

#### A3.3 EDTA K<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O(EDTA 二钾)

- a) 相对分子质量 404.4。
- b) 无嗅白色粉末。
- c) 溶解性:22℃,1 650 g/L 左右。
- d) 螯合能力:1 g 或 2.4 mmol EDTA 二钾可螯合 2.4 mmol 或 100 mg 钙离子。

#### A3.4 EDTA K<sub>3</sub>(EDTA 三钾)

- a) 相对分子质量 406。
- b) 无嗅无色液体。
- c) 干品为白色无嗅粉末。
- d) 溶解性:22℃,1 650 g/L 左右。
- e) 螯合能力(干品):1 g 或 2.4 mmol EDTA 三钾可螯合 2.4 mmol 或 100 mg 钙离子。

### A4 要求剂量

#### A4.1 抗凝能力

由于 EDTA 的抗凝能力源自与血浆中游离钙离子的计量化学性螯合,比较不同形式的 EDTA 盐抗凝能力时,需要考虑其相对分子质量和水合程度。抗凝需要足量的 EDTA,但是过量的 EDTA 会造成血细胞形态学的改变。

#### A4.2 EDTA 盐

加入血样中的 EDTA 盐含量应在 4.55 mmol/mL±0.85 mmol/mL 血样范围内。由于不同的 EDTA 盐的相对分子质量不同,其与血样的质量体积比也有所不同。

表 A1 EDTA 盐质量(mg)与血样体积(mL)比例表

EDTA 盐	比例
二水合 EDTA 二钠 (EDTA Na <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O)	1.4~2.0
二水合 EDTA 二钾 (EDTA K <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O)	1.5~2.2
无水 EDTA 三钾 (EDTA K <sub>3</sub> )	1.5~2.2

## A5 EDTA 作为抗凝剂可供选择的形式

EDTA 有自由酸、二钠盐、二钾盐和三钾盐等多种形式。EDTA 盐类由于在血浆中的高溶解度而被采用。

除了不同的 EDTA 盐其溶解度不同之外,使 EDTA 盐完全发挥抗凝效力还取决于盐本身化学性质以及在采血管中以何种形式存在。反应效力与盐为冻干、风干还是液态有关。为了确保混匀完全、抗凝得当,所有采血管必须颠倒混匀数次(5~8 次)。二钠盐和二钾盐使用时通常为干粉,血细胞计数和分类首选 EDTA 二钾盐作为抗凝剂;为了增强抗凝能力,EDTA 三钾使用时通常为溶液。通常使用的三钾溶液将使血液稀释 1%至 2%。当血未采满时,EDTA 三钾溶液对血的稀释作用可能会使检验结果出现偏差。同样,使用三钾盐抗凝测定的红细胞压积也可能偏低。

## A6 样本的稳定性

A6.1 使用者应确保标本的稳定性。标本的稳定性取决于所采纳的添加剂、采样系统、仪器因素及保存状态。

A6.2 最影响样本稳定性的是“采血不足”,为了确保抗凝适当,EDTA 与血样最佳比例为 1.5 mgEDTA : 1 mL 血样;剂量过大会影响血细胞形态。

## A7 标签说明

生产厂家需提供以下数据:

- a) EDTA 盐的类型。
- b) EDTA 的质量和/或体积。
- c) 采血量。
- d) 有效期。
- e) 保存条件。

## A8 分析

### A8.1 比色滴定-羟基苯酚蓝

#### A8.1.1 试剂

##### A8.1.1.1 碳酸钙溶液

称取 200 mg 左右化学纯碳酸钙于 400 mL 左右烧杯中,将 10 mL 蒸馏水加入烧杯,记录碳酸钙质量。搅动烧杯中的溶液,形成悬浊液。在烧杯上罩一块透明玻璃,加入 3 mol/L 的盐酸 2 mL 将碳酸钙溶解。往烧杯中加蒸馏水至 100 mL,制得碳酸钙溶液。

##### A8.1.1.2 氢氧化钠溶液:1 mol/L。

##### A8.1.1.3 羟基苯酚蓝,二钠盐。

#### A8.1.2 步骤

分析步骤如下:

- a) 称约 1.5 g EDTA 盐,并记录质量;
- b) 将 EDTA 盐溶解在 11 mL 1 mol/L 氢氧化钠中,并转移至 100 mL 容量烧瓶中(如果使用二钠或三钾盐,可用蒸馏水代替氢氧化钠。);
- c) 加蒸馏水至 100 mL;
- d) 将溶液移至滴定管;
- e) 在磁性搅拌棒的搅拌下,将大约 30 mL EDTA 盐溶液由滴定管加入盛有碳酸钙溶液的烧杯中;
- f) 加入 10 mL 1 mol/L 氢氧化钠和 300 mg 羟基苯酚蓝;

## WS/T 224—2002

g) 用 EDTA 溶液滴定直至溶液变蓝, 到达滴定终点。

## A8.1.3 计算

见式(1)。

$$m = \frac{m_1 \times W}{V} \dots\dots\dots (A1)$$

式中:  $m$ ——EDTA 的质量, mg;

$m_1$ ——碳酸钙的质量, mg;

$W$ ——EDTA 盐的相对分子质量;

$V$ ——滴定所用 EDTA 盐溶液的体积, mL。

## 附录 B

(标准的附录)

## 采血管添加剂: 肝素

肝素螯合力低、对水分子运动的影响小、阴离子浓度相对低, 所以在多种以全血或血浆为标本的检验中, 推荐使用肝素做为抗凝剂。本附录描述用于采集和处理分析用血样的肝素复合物。肝素的钠盐和铵盐常见; 但是, 由于肝素锂在检测非锂离子时产生干扰的可能性最小, 推荐使用肝素锂做为抗凝剂。目前, 在对 pH 值、血气、电解质和钙离子的检测中肝素是唯一可以使用的抗凝剂。进行凝血检验时, 不应使用肝素。关于肝素在钙离子、血气分析、电解质及相关分析物的测定中的使用资料, 参阅 NCCLS 文件 C31-A 和 C32-P。

## B1 原理

## B1.1 描述

肝素锂是一种可以延长凝血时间的硫化氨基多糖, 完全水解后, 其残基为 D-葡萄糖胺、D-葡萄糖醛酸和硫酸。肝素通常从牛和猪的肺和肠中提取。在干燥状态下计算, 肝素锂的效价不应小于 132 IU/mg, 并且应该在注明效价的  $\pm 10\%$  之内。肝素锂基本上无外源性离子。为检测血样锂水平时, 不能使用肝素锂抗凝。

## B1.2 作用方式

肝素和抗凝血酶 III 形成一种复合物, 肝素主要通过这种复合物起作用。这种复合物加速对凝血酶和已活化 X 因子的抑制作用, 防止凝血或激活凝血酶。

## B1.3 质量规定

B1.3.1 物理描述: 白色或乳白, 无定形粉末, 无嗅, 易潮解。

B1.3.2 效价: 干燥状态不小于 132 IU/mg。

B1.3.3 pH 值: 1% (W/V; 1 g/100 mL) 纯水溶液的 pH 值应在 6.0 至 8.0 之间。

B1.3.4 溶解度: 5% (W/V; 5 g/100 mL) 溶液是澄清的。如果必要, 应使用玻璃过滤器过滤, 可得澄清液体。

B1.3.5 干燥失重: 不超过 8%。

B1.3.6 燃烧后残余物: 不超过 36%。

B1.3.7 蛋白: 使用三羧酸法检验, 蛋白反应应为阴性。

B1.3.8 氮: 干燥状态下不超过 3%。

B1.3.9 钠: 不超过 0.2%。

B1.3.10 钾: 不超过 0.2%。

B1.3.11 钙: 不超过 0.2%。



## WS/T 224—2002

**B1.3.12** 氨:使用亚硝基铁氰化钠或谷氨酸脱氢酶方法检测,不超过 0.01%。

**B1.3.13** 锂:含量在 3.5%至 4.5%之间。

**B1.3.14** 重金属:小于 0.003%。

**B1.3.15** 毒素检验:每 1 IU 肝素中内毒素不超过 0.028 IU。

为避免肝素直接接触或吸入尘埃,应封紧容器。批量肝素产品应该标明所用动物种类和器官。

## B2 剂量要求

采血管成品通常含过量肝素。对于真空采血管,已被大家接受的推荐范围 9.4 IU/mg~28 IU/mg。塑料微量采血管中肝素含量少于 14 IU/mg。

## B3 标签说明

**B3.1** 肝素盐的类型。

**B3.2** 肝素的效价(无水质量)。

**B3.3** 采血量。

**B3.4** 有效期。

**B3.5** 采血及混匀方法。

## B4 在其他检验中的应用

采血管中肝素可以多种方式与血样作用。生产厂家应该检测含肝素采血管在常规检验中的适用性。如果将含肝素的采血管应用于某种使用肝素抗凝的试验而无相关试验数据支持时,应进行干扰因素检测。

## B5 鉴定方法

**B5.1** 肝素分析通常需要待测液浓度不低于 2.8 IU/mL。作为底物的羊血浆可能含血小板第 4 因子、促凝血酶原激酶及其他能中和肝素的血浆蛋白,为了有效地进行检测,需更大剂量的肝素。

**B5.2** 下述替代方案主要用于采血管制造商进行质量控制时对单一采血管的肝素含量检测。抗 II a 因子(凝血酶抑制)呈色底物分析法准确可靠,被广泛承认和使用。这种合成呈色底物分析法不使用血浆,而使用纯试剂。它不受不同批号血浆之间差异的影响。

### B5.2.1 原理

作为“凝血瀑布式反应”的最后步骤之一,凝血酶作用于纤维蛋白质(可溶性),将其转化为不溶性纤维蛋白凝块。合成性呈色底物模拟将被分裂(从纤维蛋白原到纤维蛋白)的活性底物。这个合性肽在其羧基端带有一个发色基团。凝血酶在羧基端切割这些复合物,并释放发色基团。其释放量可以用分光光度计直接测量。由于游离发色基团的光吸收量随肝素量的增加呈线性减少,肝素的活性可以被间接测定。该方法的灵敏度较高,甚至小于 0.05 IU 的肝素都能测量。此系统不受各种血浆中常见干扰因素的影响。

肝素 + 抗凝血酶 III → 肝素化抗凝血酶 III

肝素化抗凝血酶 III + 凝血酶 → 肝素化抗凝血酶 III 凝血酶 + 残余凝血酶

残余凝血酶 + R—PNA(发色基团) → RCOOH + PNA

注:抑制凝血酶作用比抑制被活化的第 X 因子有更强的抗凝作用。

### B5.2.2 用品

需使用下列用品:

a) 分光光度计,405 nm,光栅宽度不大于 6 nm。

b) 1.4 至 1.5 mL 比色杯。



## WS/T 224—2002

c) 水浴(37℃)。

d) 冰浴(0℃)。

e) 秒表。

另需塑料试管、精密塑料加样器和塑料加样器头。装凝血酶的试管应该用 0.1% 聚乙二醇(相对分子质量 20 000)溶液冲洗后风干,从而防止凝血酶被管壁吸收。

如果条件允许,应尽量使用塑料制品以减少对试剂的吸附。

### B5.2.3 试剂

**B5.2.3.1 人或牛凝血酶:**凝血酶应该基本上无其他凝血因子,特别是第 X 因子。凝血酶的效价不应该低于 2 000 NIH/mg 蛋白质。

**B5.2.3.2 人抗凝血酶 III:**此试剂应该不含肝素。人抗凝血酶 III 的效价不应该低于 20 IU/mg 蛋白质。

**B5.2.3.3 待测肝素。**

**B5.2.3.4 肝素标准品或已测定肝素**均可用作参比物质。

(1) 聚乙二醇:6 000。

(2) 聚乙二醇:20 000。

(3) 生色底物(Chromogenix S-2366 或 S2238)。

(4) 冰乙酸(终点法用)。

### B5.2.4 配液

使用下述步骤配液:

a) 缓冲液 I :250 mL 0.2 mol/L Tris HCl。

b) 抗凝血酶 III :用缓冲液调整到 1 IU/mL。

c) 凝血酶:用缓冲液调整到 10 IU/mL。在使用前,需将凝血酶溶液置于冰浴中保存。

d) 乙酸溶液(如果使用):将冰乙酸稀释至原浓度的 50%。

e) 合成性生色底物:用蒸馏水(最好无菌)溶解推荐使用的底物,配成 0.75 mmol/L 的溶液。为了最大限度地保持稳定,需将溶液 2℃~8℃ 避光保存。

f) 标准品肝素和待测肝素:用 Tris 缓冲液将标准品肝素和待测肝素的贮存液(盐水溶液或水溶液)配成不同工作浓度,范围为 0 至 0.25 IU/mL(即 0.25-0.188-0.125-0.0625-0.03125 IU/mL)。如果以固体肝素配制溶液,最高浓度应在 6 μg/mL~7 μg/mL 左右,并由此工作原液逐级稀释。

用 Tris 缓冲液替代肝素溶液,作为空白对照。如必要,可校正凝血酶浓度至 405 nm 下空白值为 0.650~0.750 ΔA/min。

### B5.2.5 步骤:动力学方法

**B5.2.5.1 将下列溶液加入比色杯:**

a) 600 μL 缓冲液;

b) 100 μL 抗凝血酶 III (1 IU/mL);

c) 100 μL 某种浓度的肝素。

**B5.2.5.2 混匀,37℃ 水浴 60 s(如需要,水浴时间可延长)。**

**B5.2.5.3 加入 100 μL 凝血酶溶液(10 NIH/mL)。**

**B5.2.5.4 混匀,37℃ 水浴 30 s。**

**B5.2.5.5 加入 200 μL 生色底物溶液(0.75 mmol/L)。**

**B5.2.5.6 混匀后立即在 405 nm 分光光度计上读数,记录 1 min 内任何吸光度的变化。**

注:吸光度的变化可以由起始时及 60 s 后的吸光度判定,也可以由每分钟吸光度变化决定,每分钟吸光度变化可以由图记录得出(使用可记录分光光度计)。

**B5.2.5.7 重复上述过程,测定并记录所有浓度标准品及待测肝素的数据。**

### B5.2.6 计算效价

## WS/T 224—2002

按标准品肝素和待测肝素浓度由大到小依次排列实验数据。标准品和待测肝素的零浓度吸光度值应该与空白对照值相同。将吸光度值的变化转化为对数值,以肝素浓度为横坐标,吸光度变化的对数值为纵坐标作图。标准品及待测肝素的回归线零浓度时在 Y 轴的交点重合。

计算标准品及待测品直线回归的斜率,使用斜率比例法计算待测肝素效价,即待测品的效价等于斜率比例与标准品效价的乘积。即:(待测品斜率/标准品斜率)×标准品效价=待测品效价

**B5.2.7 终点法**

依照动力学方法反应 60 s 后,立即加入 300 μL 乙酸溶液,混匀以终止反应。在 405 nm 下读数,记录标准品及待测品的吸光度。计算待测品效价的方法同上。

**B6 肝素中氨含量分析****B6.1 亚硝基铁氰化钠法****B6.1.1 试剂**

**B6.1.1.1 酚显色试剂:**将 50 g 分析纯的酚及 0.25 g 亚硝基铁氰化钠溶解于水,定容至 1 000 mL。避光、低温条件下,此溶液可在棕色瓶中保存 2 个月。

**B6.1.1.2 碱性次氯酸盐试剂:**将 25 g 次氯酸钠溶于水,定容至 1 000 mL。商用漂白剂溶液可替代次氯酸钠粉末。500 mL 漂白剂溶液用水定容至 1 050 mL,浓度应等同于上述次氯酸钠粉末溶解后的浓度。避光、低温条件下,此溶液可在棕色瓶中保存 2 个月。

**B6.1.2 分析**

**B6.1.2.1 准备标准品溶液:**准确称量 390 mg 分析纯硫酸铵,用蒸馏水溶解后定容至 1 000 mL。将 4 mL 上述溶液移至 50 mL 容量瓶中,定容至 50 mL,每毫升溶液含 8.5 μg 氨。此溶液应在分析前现配。

**B6.1.2.2 准备样品溶液:**准确称量 500 mg 待测肝素。用 5 mL 至 6 mL 水溶解,在容量瓶中定容至 10 mL。将 2 mL 上述溶液移至 50 mL 容量瓶中,塞紧容量瓶盖。

**B6.1.2.3 分析步骤如下:**

a) 将 1.0 mL 酚显色试剂和 1.0 mL 氯酸碱盐试剂分别加入一个 50 mL 容量瓶。每个容量瓶中含 2 mL 水,2 mL 标准品溶液及 2 mL 样品溶液;

b) 充分混匀;

c) 用塑料塞子塞紧容量瓶,55℃水浴 20 min±2 min;

d) 冷却,将容量瓶定容至刻度。充分混匀;

e) 室温,在最大吸收(约 630 nm)下测定标准品及样品溶液的吸光度,采用 1 cm 比色杯,以蒸馏水作空白对照。

**B6.1.3 计算**

计算见式(B1)。

$$m = \frac{A_u}{A_s} \times \frac{W_1}{W_2} \dots\dots\dots (B1)$$

式中:*m*——每克肝素中氨的微克数;

*A<sub>u</sub>*——空白校正后样品中氨的吸光度;

*A<sub>s</sub>*——空白校正后标准品中氨的吸光度;

*W<sub>1</sub>*——颜色反应容量瓶中标准品所含氨的毫克数;

*W<sub>2</sub>*——颜色反应容量瓶中样品所含氨的毫克数。

## WS/T 224—2002

## 附录 C

(标准的附录)

## 采血管添加剂:枸橼酸钠

枸橼酸钠或枸橼酸钠缓冲液不仅适用于大量血液的抗凝而且常用于血液标本抗凝,是凝血实验首选的抗凝剂。

## C1 描述

枸橼酸是一种三羧酸,相对分子质量为 192,其常见形式为三钠盐。含二个水分子的三钠盐(pH8.0)相对分子质量为 294。其他枸橼酸盐(二钠盐、氢二钠盐,pH4.9~5.2)也可使用。枸橼酸钠和枸橼酸合并使用,称为枸橼酸钠缓冲液。

## C2 作用方式

枸橼酸钠主要通过与其血样中钙离子螯合而起抗凝作用。钙是凝血瀑布式反应中必备因子之一。将钙从凝血酶复合物中去除可以阻止凝血酶原转化为凝血酶因而抑制纤维蛋白原向纤维蛋白的转化。枸橼酸钠的螯合作用可以通过血液或去钙血浆的再钙化来逆转。由于这种简单的可逆作用,枸橼酸钠适用于凝血实验。枸橼酸钠不影响凝血因子,对细胞及血小板的影响也极其微小。

## C3 定性特征

钠与枸橼酸可用如下特性鉴定:

钠:焰色反应呈亮黄色。

枸橼酸盐:将几毫克枸橼酸盐加入 15 mL 吡啶中,再加入 1 mL 乙酸酐,混匀后将生成浅红色。

枸橼酸盐灼烧后可产生碱性残渣,用 3 mol/L 盐酸处理,有产生气泡。

## C4 定量特征

将枸橼酸钠 180℃ 烘干 18 h 后,准确称量 350 mg,放入 250 mL 烧杯,或将 10 mL 枸橼酸钠溶液(由二水合枸橼酸钠晶体配制)移至 250 mL 烧杯,蒸发干燥。加入 100 mL 冰乙酸,边加边搅拌,直至固体全溶解。用 0.1 mol/L 过氯酸滴定,通过甘汞-玻璃电极系统以电位确定滴定终点。测定空白,适当校准。每毫升 0.1 mol/L 过氯酸等价于 9.803 mg 二水合枸橼酸三钠或 8.602 mg 无水枸橼酸钠。

## C5 使用

枸橼酸钠可做如下使用:

含枸橼酸钠溶液或枸橼酸钠缓冲液的采血管,其枸橼酸钠的浓度通常为 3.8%含浓度为 3.2%枸橼酸钠采血管也可使用。

需确定检验用枸橼酸盐浓度时,应参考试剂生产厂家的产品说明。

附录 D  
(标准的附录)  
真空采血管头盖颜色国际通用标准

表 D1

采血管分类	采血管类型	添加剂代码	管盖颜色
惰性分离胶管	含分离胶和促凝剂的血清分离管(1 mL~4 mL 胶/管)	无	金色
	含分离胶和肝素的血浆分离管(1 mL~4 mL 胶/管; 9.8~28 IU 肝素/mL 血)	无	浅绿色
	含促凝血酶原激酶(0.2~0.8 mg/mL 血), 干粉状态	无	—
无添加剂管	内壁涂硅酮的血清管	无	红色
	内壁未涂硅酮的血清管	Z	粉红色
含添加剂的血清管	含凝血酶(至少 2 IU/管), 干粉状态	无	桔黄色
	特殊促凝剂	无	红色
	含凝血酶, 大豆胰岛素阻断剂, 干粉状态	无	浅蓝色
	K <sub>2</sub> EDTA(1.5~2.2 mg/mL 血; 4.55±0.85 μmol/mL 血) 干粉状态	K2E	
	K <sub>3</sub> EDTA(1.5~2.2 mg/mL 血; 4.55±0.85 μmol/mL 血) 液体状态	K3E	紫色
	Na <sub>2</sub> EDTA(1.5~2.2 mg/mL 血; 4.55±0.85 μmol/mL 血) 干粉状态	N2E	
	枸橼酸钠溶液[38 g/L; (3.8%); 0.129 mol/L] 与血样比例为 1:9 <sup>A</sup>	NC9	
	枸橼酸钠溶液[32 g/L; (3.2%); 0.109 mol/L] 与血样比例为 1:9 <sup>A</sup>	NC9	浅蓝色
	枸橼酸钠缓冲液, 相当于[38 g/L; (3.8%); 0.129 mol/L] 与血样比例为 1:9	BC9	
	枸橼酸钠缓冲液, 相当于[32 g/L; (3.2%); 0.109 mol/L] 与血样比例为 1:9	BC9	
全血管/血浆管	血沉试验用枸橼酸钠溶液[38 g/L; (3.8%); 0.129 mol/L] 与血样比例为 1:4	NC4	
	血沉试验用枸橼酸钠溶液[32 g/L; (3.2%); 0.109 mol/L] 与血样比例为 1:4	NC4	
	血沉试验用枸橼酸钠缓冲液[38 g/L; (3.8%); 0.129 mol/L] 与血样比例为 1:4	BC4	黑色
	血沉试验用枸橼酸钠缓冲液[32 g/L; (3.2%); 0.109 mol/L] 与血样比例为 1:4	BC4	

WS/T 224—2002

表 D1 (完)

采血管分类	采血管类型	添加剂代码	管盖颜色
全血管/血浆管	氟化钠(抗血糖分解剂, 2.5 mg/mL 血; 59.5 μmol/L 血)/EDTA (抗凝剂 1.5 mg/mL 血; 4 μmol/L 血), 干粉状态	无	灰色
	氟化钠(抗血糖分解剂, 2.5 mg/mL 血; 59.5 μmol/L 血)/草酸钾 (抗凝剂 2.0 mg/mL 血; 10.9 μmol/L 血), 干粉状态	NFX	灰色
	肝素锂(9.8~28 IU/mL 血), 干粉状态	LJH	绿色
	肝素钠(9.8~28 IU/mL 血), 干粉状态	NAH	
微量元素管	血清管, 无添加剂, 管内壁涂有硅酮	无	深蓝
	全血管, 含肝素钠或 Na <sub>2</sub> EDTA	无	无
血铅管	全血管, 含肝素钠或 Na <sub>2</sub> EDTA	无	棕色
	CPT 单核细胞准备管, 含枸橼酸钠溶液, 惰性分离胶, 葡聚糖溶液	无	浅蓝色/黑色
	CPT 单核细胞准备管, 含肝素钠溶液, 惰性分离胶, 葡聚糖溶液	无	红色/绿色
免疫学试管	PPT 血浆准备管, 含干粉态 K <sub>2</sub> EDTA, 惰性分离胶	无	珍珠白色
	含 SPS 溶液、氯化钠溶液	SPS	浅黄色
微生物全血试管	含 ACD 溶液、抗凝剂	ACD	浅黄色
	注: 两种浓度的枸橼酸钠溶液都可用于血样抗凝及血沉试验, 其缓冲液中实际枸橼酸分子浓度在不同的缓冲液体系中可有轻微波动。		

注: 根据临床特殊需要, 还有大量其他种类添加剂可供选择。